Aus der Medizinischen Klinik der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Prof. Dr. med. N. Henning

Experimentelle Untersuchungen zur Knollenblätterpilz-Vergiftung

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Friedrich-Alexander-Universität
zu
Erlangen-Nürnberg

Vorgelegt von
Günter Obauer
aus Nürnberg

1964

D 29

Dekan: Prof. Dr. W. D. Keidel

Referent: Prof. Dr. N. Henning

Tag der mündlichen Prüfung: 28. 9. 1964

Sonderdruck aus:

»ARZNEIMITTEL-FORSCHUNG«
»DRUG RESEARCH«
Arzneim.-Forsch. (Drug Res.) **14**, 1257—1259 (1964)
Editio Cantor / Aulendorf i. Württ.

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Erlangen;
Direktor: Professor Dr. med. N. Henning

Experimentelle Untersuchungen zur Knollenblätterpilz-Vergiftung

Von

Günter Obauer und Harald Schön †

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41538102_0059

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Erlangen;
Direktor: Professor Dr. med. N. Henning

Experimentelle Untersuchungen zur Knollenblätterpilz-Vergiftung

Von Günter Obauer*) und Harald Schön†

Aus einer Schweizer Statistik [1] mit 40jähriger Beobachtungszeit ergibt sich, daß 14,3% — ein Siebentel — aller Pilzvergiftungen auf Genuß des grünen oder weißen Knollenblätterpilzes (*Amanita phalloides*) zurückgehen. Während dieses Zeitraumes wiesen die Vergiftungen eine Letalität von 30,2% auf. Das späte Auftreten der Intoxikationssymptome 8—24 oder mehr Stunden nach der Pilzmahlzeit ist die besondere Eigentümlichkeit.

Aus diesem Grunde kommen die sonst üblichen Gegenmaßnahmen wie Magenspülung, Verabreichung von Brech- und Abführmitteln meist zu spät, werden jedoch noch versucht. Als weitere Medikamente sind in der Klinik Leberschutzmittel sowie Cardiaca und Analeptica üblich. Ein spezifisches Therapeuticum konnte bisher nicht gefunden werden, insbesondere ist die Wirkung des Antiphalloidin-Serums (Hersteller: Pasteur-Institut Paris) umstritten.

Als toxische Substanz konnte aus Knollenblätterpilzen das Cyclopeptid Phalloidin isoliert werden [2]. Auf Grund der bisherigen Erfahrungen führt dieses Gift vorwiegend zu toxischen Leberschäden. Nach Untersuchungen von Matschinsky u. Wieland [3] greift das Phalloidin primär an den Strukturelementen der Leber an. Sekundär erfolgt die Zerstörung der Leberzelle. Die Vergiftung kann unter dem Bild der schweren Leberdystrophie ad exitum führen, aber auch folgenlos ausheilen. Der toxikologische Mechanismus ließ sich bisher nicht aufklären.

Der augenfälligste Unterschied zwischen der Erkrankung des Menschen und der experimentellen Tiervergiftung liegt in der zeitlichen Verschiebung des Auftretens der Symptome [3]. Während nach Genuß von Speisen mit Knollenblätterpilzen die krankhaften Erscheinungen bis zu 24 h auf sich warten lassen können, verstrichen nach Zufuhr des Toxins im Tierversuch nur wenige Stunden bis zur Manifestation der Vergiftungssymptome. Hierbei muß aber berücksichtigt werden, daß in den vorliegenden Untersuchungen Phalloidin parenteral zugeführt wurde (ip.), während bei der Erkrankung des Menschen das Gift enteral resorbiert wird. Ob hierdurch die unterschiedlichen Ergebnisse zum Teil verursacht sind, muß diskutiert werden.

*) D 29

Das Ziel der vorliegenden Untersuchungen war es, im Tierversuch den Ablauf der Intoxikation an bestimmten Serumenzymen zu verfolgen und die therapeutische Beeinflußbarkeit mit Thioctsäure und Reducdyn® (N-Acetyl-D,L-homocystein-thiolacton + L-Cystein + D-Fruktose) zu prüfen.

Material und Methodik

Es wurden drei unterschiedliche Versuchsanordnungen ausgeführt. Nach der Art der Untersuchungen richtete sich die Wahl der jeweiligen Versuchstiere.

I. Beobachtung der Enzymveränderungen am vergifteten Tier

Zur Beobachtung der Enzymveränderungen im Serum nach Applikation subletaler Phalloidin-Dosen wurde weiblichen Kaninchen (10 Tiere mit einem Körpergewicht von ca. 3 kg) 1 mg/kg Körpergewicht (= 3 mg pro Tier) Phalloidin*) ip. verabreicht. Bei dieser Dosierung überlebten die Tiere, so daß es möglich war, den Verlauf des Enzymanstieges im Serum über 3—4 Tage zu kontrollieren.

II. Versuch einer curativen Beeinflussung

Wegen der nur geringen Phalloidin-Mengen, die uns zur Verfügung standen, wurden zu den weiteren Versuchen Mäuse herangezogen.

Versuchstiere: 450 weibliche Mäuse von 25—30 g Gewicht. Die erste Versuchsreihe galt der Bestimmung der LD_{50}.

1. Diese Dosis lag bei 40 γ/20 g Maus, mußte aber bei Versuch II, 3 wegen der Anlieferung eines anderen Mäusestammes auf 80 γ/20 g erhöht werden.
2. In dieser Reihe wurde versucht, eine für Mäuse gut verträgliche Menge der zu therapeutischen Zwecken ip. applizierten Substanzen Thioctsäure und Reducdyn zu ermitteln. Die Toleranzdosis lag für Thioctsäure bei 0,4 cm³ und für Reducdyn bei 1,0 cm³/20 g Maus.
3. Kombination der Versuchsanordnungen unter 1. und 2. zur Prüfung der Schutzwirkung von Thioctsäure und Reducdyn.

III. Beobachtung der Enzymveränderungen an vergifteten Tieren unter Einfluß von Thioctsäure und Reducdyn

Gruppen von 10 Mäusen wurden jeweils ip. injiziert:

a) Phalloidin,
b) Phalloidin und unmittelbar anschließend Thioctsäure,
c) Phalloidin und unmittelbar anschließend Reducdyn.

1—2 h post injectionem wurden die Mäuse dekapitiert und im Serum die Aktivität der GPT bestimmt.

Enzymaktivitätsmessung

Je nach Serummenge wurden die Aktivitäten von Sorbitdehydrase (SDH), Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT) und Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT) im optischen Test nach Warburg unter Verwendung der Testpackungen von Boehringer bei Einsatz halber Serummengen bestimmt. Standen nur geringe Serumvolumina zur Verfügung, wurde zunächst die GPT-Aktivität ermittelt.

Ergebnisse

I. Der Anstieg der GOT setzt bei mit Phalloidin vergifteten Kaninchen 15—20 h früher ein als der Anstieg der GPT. 6—8 h post injectionem zeigt die GOT eine deutlich steilere Kurve, während bei der GPT erst nach 25 h eine Erhöhung zu erkennnen ist. Ebenso zeigt der Gipfel der GPT eine Verschiebung um

*) Wir danken Herrn Professor Dr. Th. Wieland, Vorstand des Organisch-chemischen Institutes der Universität Frankfurt, für die Überlassung von Phalloidin.

Tab. 1: Bestimmung der LD_{50} von Phalloidin an Mäusen.

Zahl der Tiere	Zahl der verstorbenen Tiere bei einer Phalloidin-Dosis von			
	20 γ	40 γ	64 γ	80 γ
je 5	—	—	2	4
je 5	—	—	1	3

Tab. 2: Bestimmung der für Mäuse verträglichen Dosis von Thioctsäure und Reducdyn.

Tierzahl	Thioctsäuredosis (cm^3)	Zahl d. verst. Tiere	Reducdyn-Dosis (cm^3)	Zahl d. verst. Tiere
je 5	1,5	4	1,5	2
je 5	1,5	5	1,5	1
je 5	1,0	3	1,0	—
je 5	1,0	3	1,0	—
je 5	0,8	1		
je 5	0,8	2		
je 5	0,5	—		
je 5	0,5	1		
je 5	0,4	—		
je 5	0,4	—		

Tab. 3: Therapieversuche.

Tierzahl	Zahl der verstorbenen Tiere nach einer Applikation von		
	80 γ Phalloidin	80 γ Phalloidin + 0,4 cm^3 Thioctsäure	80 γ Phalloidin + 1,0 cm^3 Reducdyn
je 5	4	2	5
je 5	3	5	3
je 5	5	3	4
je 5	4	4	5

Tab. 4: Serumenzymwerte (Mischserum von je 10 Mäusen).

Serumenzym	Leerwert	40 γ Phall.	40 γ Phall. + 0,4 cm^3 Thioctsäure	40 γ Phall. + 0,5 cm^3 Reducdyn
GPT	30,7	133,0	60,2	65,7
GOT	71,2	239,2	130,1	132,5
SDH	10	87	39	40

Versuche, die Phalloidin-Intoxikation durch in größeren Abständen (1 h)nachfolgende Thioctsäure- oder etwa 10 h. Der Abfall der beiden Enzyme erfolgt zeitlich gleichlaufend. Nach 80 h zeigt sich eine deutliche Tendenz zur Rückkehr auf die Normalwerte der beiden Serumenzyme (s. Abb. 1).

II. Bei den Therapieversuchen an mit Phalloidin vergifteten Mäusen konnte keine Beeinflussung des Vergiftungsablaufes und der LD_{50} durch Thioctsäure und Reducdyn festgestellt werden. Die Tabellen zeigen keine Unterschiede zwischen der Letalität von Tieren, denen nur Phalloidin verabreicht wurde und solchen, die als zweite Injektion (10 min später) Thioctsäure und Reducdyn erhielten (Tab. 1 bis 3).

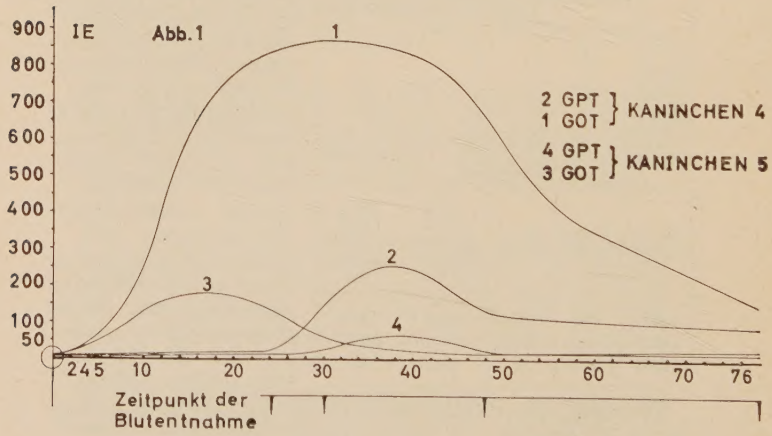
III. Dagegen scheinen Thioctsäure und Reducdyn jeweils einen dämpfenden Einfluß auf die Aktivitäten der Serumenzyme auszuüben. Tab. 4 zeigt eine deutliche Verminderung sowohl bei Thioctsäure-, als auch bei Reducdyn-Gabe auf die Hälfte gegenüber den Enzymaktivitäten der nur mit Phalloidin behandelten Mäuse.

Reducdyn-Applikation abzuschwächen, schlugen fehl, weil einzelne Tiere bereits nach 1 h starben.

Diskussion

Unser Augenmerk galt zunächst der Erklärung für die Ursache der zeitlichen Differenz im Auftreten der Symptome bei der Pilzvergiftung des Menschen und im Tierversuch [3]. Während sich nach Knollenblätterpilzgenuß die ersten Symptome nach 6—24 h einstellen, treten sie nach Phalloidin-Injektion beim Tier bereits nach wenigen Stunden ein. Durchströmungsversuche an der isolierten Leber haben jedoch gezeigt, daß die biochemischen Reaktionen auf Phalloidin auch an diesem Modell auftreten [3], so daß ein „Giftungseffekt" durch Darm- oder Körperpassage ausgeschlossen werden kann. Offenbar ist der zeitliche Verzug bis zum Eintreten der Leberdystrophie durch die im Vergleich zu unseren Tierversuchen geringere Giftkonzentration und den langsamen Ausfall der Leberfunktion bedingt. Auch von uns wurden im Tierversuch bei Kaninchen Anstiege der Transaminasen erst nach 10 h beobachtet. Zu diesem Zeitpunkt kann man bei sorgfältiger Verlaufskontrolle auch beim Menschen bereits Enzymanstiege (GPT, GOT, SDH) im Serum feststellen. Mäuse sind offenbar gegen Phalloidin wesentlich empfindlicher und sterben bereits nach wenigen Stunden.

Wie neuere Untersuchungen aus dem Arbeitskreis von Wieland [4] zeigen, werden 57% der Phalloidin-Aktivität in 2 h von der Leber aufgenommen, während alle anderen Organe nur geringe Aktivitäten enthalten. Das Toxin wird im wesentlichen von den



Lebermitochondrien gebunden. Besonders schnell kam es bei Durchströmung der isolierten Leber zu einem Versiegen der Galleproduktion.

Für den Ablauf der Knollenblätterpilz-Vergiftung am Menschen ergibt sich aus den bisher vorliegenden Arbeiten und insbesondere aus unseren Kaninchenversuchen, daß eine individuell variable und speciesabhängige Giftempfindlichkeit besteht. Trotz gleicher Dosierung waren die Enzymanstiege im Serum der Kaninchen sehr unterschiedlich. Wenn auch über das Initialstadium der biochemischen Vergiftungserscheinungen nichts bekannt ist, so geht aus den Untersuchungen von v. d. Decken u. Mitarb. [5] eine Hemmung der Proteinsynthese hervor. Eine solche Hemmung muß sich an einem so stoffwechselaktiven Organ, wie es die Leber ist, besonders nachhaltig auswirken.

Die große Bindungsgeschwindigkeit und Haftfestigkeit des Phalloidins in der Leber gibt eine Erklärung dafür, daß wir in unseren curativen Versuchen nur bei sofort der Phalloidin-Applikation nachfolgender Gabe der zu testenden Substanzen einen gewissen Schutzeffekt sahen. Da die Überlebenszeit der behandelten Tiere nur im Falle der Thioctsäure-Gruppe gegenüber den unbehandelten Tieren gering verlängert war, läßt sich aus dem deutlich geringeren Enzymanstieg sowohl nach Reducdyn als auch nach Thioctsäure kein absolut beweisendes Ergebnis ableiten. Dennoch wird man eine Abschwächung der Giftwirkung durch diese beiden Substanzen diskutieren müssen. Für die praktische Therapie der Knollenblätterpilz-Vergiftung ergibt sich aus diesen Untersuchungen und denen von Wieland u. Wieland [2], daß bei jedem Verdacht auf *Amanita-phalloides*-Vergiftung die Ausscheidungsrate des Haupttoxins Phalloidin mit dem Harn durch Infusion großer Flüssigkeitsmengen erhöht werden sollte. Außerdem empfiehlt es sich, ausreichende Mengen Thioctsäure und Reducdyn zu verabreichen.

Zusammenfassung

Es werden tierexperimentelle Untersuchungen zur Frage des Ablaufs und der curativen Beeinflussung der durch Phalloidin-Applikation verursachten Leberschädigung mitgeteilt. Gemessen am Anstieg lebertypischer Enzymaktivitäten im Serum und dem Befinden der Tiere bestehen zwischen Kaninchen und Mäusen deutliche Species-Differenzen. Während bei Kaninchen vergleichbare Dosen lediglich zu einer individuell unterschiedlichen Erhöhung der Transaminasen führten, starben Mäuse innerhalb weniger Stunden.

Bei Kaninchen liegt der Gipfelpunkt des Enzymaktivitätsanstieges im Serum 40 h nach der Intoxikation.

Im curativen Versuch erwiesen sich Reducdyn® (N-Acetyl-D,L-homocystein-thiolacton + L-Cystein + D-Fructose) und Thioctsäure, gemessen an der Erniedrigung des Enzymspiegels im Serum, als wirksam. Nach Thioctsäure-Verabreichung war auch die Überlebenszeit der Tiere verlängert.

Summary

Experimental Investigations into Amanita phalloides Poisoning

This report deals with animal experimental investigations concerning course and treatment of hepatic lesions induced by administration of phalloidin. When measuring the increase of enzyme activity in the serum characteristic of liver dysfunktion as well as general well-being of the animals, marked differences exist between mice and rabbits peculiar to the species. While comparable doses only led to an increase in transaminase in varying individual degree in rabbits, mice succumbed within a few hours. In rabbits, the peak of enzyme activity increase in the serum occurred 40 hours after administration of the poison.

Regarding remedial measures, Reducdyn® (N-acetyl-D,L-homocysteine-thiolactone + L-cysteine + D-fructose) and thioctic acid proved effective when using a lowering of enzyme levels in the serum as a criterion. After administration of thioctic acid, survival times of the animals improved.

Literatur

[1] Alder, A. E., Dtsch. med. Wschr. Nr. 23, 1121 (1961)
[2] Wieland, Th. and Wieland, Otto, Pharmacological Review Nr. 11, 87 (1959)
[3] Matschinsky, Meyer u. Wieland, Otto, Biochem. Zeitschr. 333, 48 (1960)
[4] Rehbinder, Löffler, Wieland, Th. u. Otto, Biochem. Zeitschr. 331, 132 (1963)
[5] v. d. Decken, A., Löw, H. u. Hultin, T., Biochem. Zeitschr. 332, 503 (1960)

Anschr. d. Verf.: Dr. G. Obauer, Medizinische Universitätsklinik, 852 Erlangen, Krankenhausstr. 12

Verantwortlich für die Redaktion: Dr. W. Saenger. Verlag: Editio Cantor, 796 Aulendorf i. W. Ruf: Aulendorf (07525) 431. — Druck: Vereinigte Buchdruckereien, A. Sandmaier & Sohn, 7952 Bad Buchau.

Bezugsbedingungen: Die Zeitschrift erscheint monatlich einmal. Sie kann vom Verlag oder durch eine Buchhandlung bezogen werden. Der Bezugspreis beträgt im Abonnement pro Halbjahr (6 Hefte) 33,— DM einschl. Versandkosten. Das Einzelheft kostet 6,— DM einschl. Versandkosten. Kostenlose Probehefte liefert der Verlag auf Anforderung.

Auslandsabonnements errechnen sich einschließlich Versand auf der Basis von 72,— DM pro Jahr.

Lebenslauf

Ich wurde am 15. Oktober 1938 in Nürnberg als Sohn des kaufm. Angestellten Lorenz Obauer und seiner Ehefrau Erna geboren.

Von 1942 bis Kriegsende wohnte ich in Marktzeuln/Ofr., um den Bombenangriffen der Großstadt zu entgehen. Dann zogen wir nach Erlangen, wo ich die erste Volksschulklasse besuchte. Die restlichen 3 Klassen bis zum Eintritt ins Gymnasium im Jahre 1949 absolvierte ich in der Nürnberger Sperberschule. 1958 erhielt ich das Reifezeugnis des Neuen Humanistischen Gymnasiums in Nürnberg.

Im Herbst des gleichen Jahres begann ich an der Erlanger Universität das Studium der Medizin und Zahnheilkunde. In beiden Fächern legte ich im Frühjahr 1961 das Physikum ab, nachdem ich 1959 das medizinische Vorphysikum bestanden hatte.

Im 2. klinischen Semester begann ich an meiner Doktorarbeit über Knollenblätterpilzvergiftung zu arbeiten, die im Herbst 1963 fertig wurde. Durch das Ableben meines Vaters konnte ich die Zahnheilkunde nicht mehr weiter betreiben und so legte ich im Sommer 1964 die ärztliche Prüfung ab. Im September folgten die Prüfungen für die Promotion, ebenso wie alle anderen an der Erlanger Universität. Zur Zeit bin ich als Medizinalassistent in der Med. Univ.-Klinik zu Erlangen tätig.